

日本国特許庁  
JAPAN PATENT OFFICE

18.06.03

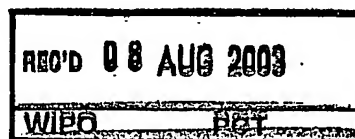
別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日  
Date of Application: 2002年 6月19日

出願番号  
Application Number: 特願2002-178619  
[ST. 10/C]: [JP2002-178619]

出願人  
Applicant(s): 科学技術振興事業団  
日本化薬株式会社  
桜井 靖久

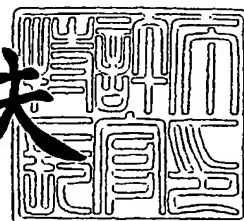


PRIORITY DOCUMENT  
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH  
RULE 17.1(a) OR (b)

2003年 7月25日

特許庁長官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

今井康夫



【書類名】 特許願

【整理番号】 46965

【提出日】 平成14年 6月19日

【あて先】 特許庁長官 及川 耕造 殿

【国際特許分類】 A61K 9/127  
C08G 69/10  
C08G 65/00

【発明者】

【住所又は居所】 千葉県鎌ヶ谷市道野辺本町 2 - 1 1 - 7 - 1 0 6

【氏名】 中西 健

【発明者】

【住所又は居所】 群馬県前橋市川曲町 2 2 - 1 5

【氏名】 清水 和久

【特許出願人】

【識別番号】 396020800

【住所又は居所】 埼玉県川口市本町 4 丁目 1 番 8 号

【氏名又は名称】 科学技術振興事業団

【特許出願人】

【識別番号】 000004086

【住所又は居所】 東京都千代田区富士見 1 丁目 1 1 番 2 号

【氏名又は名称】 日本化薬株式会社

【特許出願人】

【識別番号】 591265312

【住所又は居所】 東京都杉並区永福 3 - 1 7 - 6

【氏名又は名称】 桜井 靖久

## 【代理人】

【識別番号】 100062007

【住所又は居所】 東京都新宿区新宿1丁目1番11号 友泉新宿御苑ビル  
川口国際特許事務所

## 【弁理士】

【氏名又は名称】 川口 義雄

【電話番号】 03(3354)8623

## 【選任した代理人】

【識別番号】 100105131

【住所又は居所】 東京都新宿区新宿1丁目1番11号 友泉新宿御苑ビ  
ル 川口国際特許事務所

## 【弁理士】

【氏名又は名称】 井上 満

【電話番号】 03(3354)8623

## 【選任した代理人】

【識別番号】 100113332

【住所又は居所】 東京都新宿区新宿1丁目1番11号 友泉新宿御苑ビ  
ル 川口国際特許事務所

## 【弁理士】

【氏名又は名称】 一入 章夫

【電話番号】 03(3354)8623

## 【選任した代理人】

【識別番号】 100103920

【住所又は居所】 東京都新宿区新宿1丁目1番11号 友泉新宿御苑ビ  
ル 川口国際特許事務所

## 【弁理士】

【氏名又は名称】 大崎 勝真

【電話番号】 03(3354)8623

## 【選任した代理人】

【識別番号】 100117053

【住所又は居所】 東京都新宿区新宿1丁目1番11号 友泉新宿御苑ビ  
ル 川口国際特許事務所

## 【弁理士】

【氏名又は名称】 相馬 貴昌

【電話番号】 03(3354)8623

## 【手数料の表示】

【予納台帳番号】 008637

【納付金額】 21,000円

## 【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 要約書 1

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 ブロック共重合体－薬剤複合体の製造法

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 水、または水と混和する低沸点有機溶媒と水との混合溶媒に、親水性高分子構造部分と疎水性ポリアミノ酸構造部分からなる A B 型ブロック共重合体と薬剤を溶解し、続いて溶液を濃縮する工程を含むことを特徴とするブロック共重合体－薬剤複合体の製造法。

【請求項 2】 製造工程に透析又は限外ろ過工程を含まない請求項 1 記載のブロック共重合体－薬剤複合体の製造法。

【請求項 3】 A B 型ブロック共重合体における親水性高分子構造部分がポリエチレンオキサイド誘導体であり、疎水性ポリアミノ酸構造部分が側鎖カルボキシル基にアントラサイクリン系抗癌剤が結合したアスパラギン酸を含むポリアスパラギン酸である請求項 1 又は 2 に記載のブロック共重合体－薬剤複合体の製造法。

【請求項 4】 A B 型ブロック共重合体における親水性高分子構造部分がポリエチレンオキサイド誘導体であり、疎水性ポリアミノ酸構造部分が側鎖カルボキシル基にアントラサイクリン系抗癌剤が結合したグルタミン酸を含むポリグルタミン酸である請求項 1 又は 2 に記載のブロック共重合体－薬剤複合体の製造法。

【請求項 5】 疎水性ポリアミノ酸構造部分における側鎖カルボキシル基に結合したアントラサイクリン系抗癌剤がドキソルビシンである、請求項 3 又は 4 に記載のブロック共重合体－薬剤複合体の製造法。

【請求項 6】 薬剤がアントラサイクリン系抗癌剤である請求項 1～5 のいずれか 1 項に記載のブロック共重合体－薬剤複合体の製造法。

【請求項 7】 アントラサイクリン系抗癌剤がドキソルビシンまたはその塩である請求項 6 記載のブロック共重合体－薬剤複合体の製造法。

【請求項 8】 水、または水と混和する低沸点有機溶媒と水との混合溶媒に、親水性高分子構造部分と疎水性ポリアミノ酸構造部分からなる A B 型ブロック共重合体と薬剤を溶解し、続いて溶液を濃縮し、更に凍結乾燥する工程を含むこ

とを特徴とするブロック共重合体-薬剤複合体を含む凍結乾燥製剤の製造法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】

本発明は、親水性高分子構造部分と疎水性ポリアミノ酸構造部分からなるブロック共重合体が形成する高分子ミセルに薬剤を含有させブロック共重合体-薬剤複合体を得る際に、透析又は限外ろ過工程を含まないブロック共重合体-薬剤複合体の製造法等に関する。

【0002】

【従来の技術】

ポリエチレングリコール構造部分とポリアスパラギン酸誘導体部分からなるブロック共重合体が形成する高分子ミセルにドキシソルビシンを含有させた高分子ブロック共重合体-薬剤複合体が特開平7-69900号公報等に記載されており、遊離のドキシソルビシンと比較して低い毒性の範囲で高い抗腫瘍効果を示すことが記載されている。該ブロック共重合体-薬剤複合体は、ブロック共重合体と薬剤をジメチルホルムアミド (DMF: 沸点153℃ (101.3 kPa)) と水の混合溶媒中に溶解させた後、透析操作により有機溶媒であるジメチルホルムアミドを水に置換し、更に透析、限外ろ過操作により精製し製造されている。しかし、透析、限外ろ過操作を行うと、含有させた薬剤 (例えばドキシソルビシン) の一部も除去されてしまう (Drug Delivery System, 16, No.5, 401-408 (2001)) ため失われる薬剤は無駄となり、ブロック共重合体に対し含有薬剤量を多くすることができず、さらに含有量が連続的に変化するため含有薬剤量を一定にすることも困難である。加えて、透析および限外ろ過操作は共に実験室で行うには簡便な方法であるが、工業的に製造するには特別な設備が必要で、実際の製造には長時間を要する工程であり、工業的に現実性の高い実用的な製造法ではない。

【0003】

又、特開2001-226294号公報には、ブロック共重合体と水難溶性薬物のクロロホルム溶液を水中で機械的攪拌や超音波照射等でエマルションとし、クロロホルムを蒸発除去する高分子ブロック共重合体-薬剤複合体の製造法が記

載されているが、工場における使用に制限があり、水と混和しないハロゲン化炭化水素であるクロロホルムの使用も含めて工業的に実用的な方法ではない。

#### 【0004】

##### 【発明が解決しようとする課題】

透析や限外ろ過操作を行わず、又、ハロゲン化炭化水素を使用しないブロック共重合体－薬剤複合体の工業的に製造可能な製造方法は知られておらず、また、ブロック共重合体に対して含有薬剤量を高める実用的な方法もなく、従って、ブロック共重合体－薬剤複合体の実用的で新規な製造法が望まれていた。

#### 【0005】

##### 【課題を解決するための手段】

本発明者は、上記課題を解決するため鋭意研究の結果、本発明を完成した。

#### 【0006】

すなわち、本発明は、

(1) 水、または水と混和する低沸点有機溶媒と水との混合溶媒に、親水性高分子構造部分と疎水性ポリアミノ酸構造部分からなるAB型ブロック共重合体と薬剤を溶解し、続いて溶液を濃縮する工程を含むことを特徴とするブロック共重合体－薬剤複合体の製造法；

(2) 製造工程に透析又は限外ろ過工程を含まない上記(1)記載のブロック共重合体－薬剤複合体の製造法；

(3) AB型ブロック共重合体における親水性高分子構造部分がポリエチレンオキサイド誘導体であり、疎水性ポリアミノ酸構造部分が側鎖カルボキシル基にアントラサイクリン系抗癌剤が結合したアスパラギン酸を含むポリアスパラギン酸である上記(1)又は(2)に記載のブロック共重合体－薬剤複合体の製造法；

(4) AB型ブロック共重合体における親水性高分子構造部分がポリエチレンオキサイド誘導体であり、疎水性ポリアミノ酸構造部分が側鎖カルボキシル基にアントラサイクリン系抗癌剤が結合したグルタミン酸を含むポリグルタミン酸である上記(1)又は(2)に記載のブロック共重合体－薬剤複合体の製造法；

(5) 疎水性ポリアミノ酸構造部分における側鎖カルボキシル基に結合したアントラサイクリン系抗癌剤がドキソルビシンである、上記(3)又は(4)に記載

のブロック共重合体-薬剤複合体の製造法；

(6) 薬剤がアントラサイクリン系抗癌剤である上記(1)～(5)のいずれかに記載のブロック共重合体-薬剤複合体の製造法；

(7) アントラサイクリン系抗癌剤がドキソルビシンまたはその塩である上記(6)記載のブロック共重合体-薬剤複合体の製造法；

(8) 水、または水と混和する低沸点有機溶媒と水との混合溶媒に、親水性高分子構造部分と疎水性ポリアミノ酸構造部分からなるAB型ブロック共重合体と薬剤を溶解し、続いて溶液を濃縮し、更に凍結乾燥する工程を含むことを特徴とするブロック共重合体-薬剤複合体を含む凍結乾燥製剤の製造法；  
に関する。

#### 【0007】

##### 【発明の実施の形態】

本発明のブロック共重合体-薬剤複合体の製造法は、水、または水と混和する低沸点有機溶媒と水との混合溶媒に、親水性高分子構造部分と疎水性ポリアミノ酸構造部分からなるAB型ブロック共重合体と薬剤を溶解し、引き続いて溶液を濃縮する工程を含むことを特徴とし、特に透析又は限外ろ過操作を行わない方法である。

#### 【0008】

本発明において透析とは、半透膜を用い濃度差に基づく拡散により低分子成分(有機溶媒や塩を含む)を除去する操作である。又、限外ろ過とは、限外ろ過膜(分画分子量：5000～50000)を用い溶液を濃縮しながらブロック共重合体-薬剤複合体中の低分子成分を除去する操作である。

#### 【0009】

本発明に使用される薬剤は特に限定されないが、本発明の複合体は血管透過性に基づき腫瘍集積性に優れる点を有することから抗癌剤が好ましく、臨床に使用されている種々の抗癌剤が挙げられるが、特にアントラサイクリン系抗癌剤が好ましい。アントラサイクリン系抗癌剤としては、例えばダウノルビシン、ドキソルビシン、ピラルビシン、アクリルビシン、エピルビシン、イダルビシン等が挙げられるが、特にドキソルビシンが好ましい。



## 【0010】

本発明に使用される、親水性高分子構造部分と疎水性ポリアミノ酸構造部分からなるブロック共重合体における親水性高分子構造部分としては、通常知られている親水性を示す高分子化合物は全て含まれるが、具体的には例えば、ポリエチレンオキシド、ポリサッカライド、ポリアクリル酸、ポリメタクリル酸、ポリビニルピロリドン、ポリビニルアルコール等、又はそれらの誘導体等が挙げられ、特にポリエチレンオキシド誘導体が好ましい。ポリエチレンオキシド誘導体として具体的には、例えば後記一般式 (I) における親水性高分子構造部分が挙げられる。

## 【0011】

本発明における疎水性ポリアミノ酸構造部分とは、疎水性を示す  $\alpha$ -アミノ酸又は  $\beta$ -アミノ酸等若しくはそれらの誘導体等であれば特に限定されないが、側鎖カルボキシル基にアントラサイクリン系抗癌剤残基が結合したアミノ酸を含むポリアミノ酸が好ましい。ポリアミノ酸として具体的には、ポリアスパラギン酸、ポリグルタミン酸等が挙げられる。側鎖カルボキシル基に結合したアントラサイクリン系抗癌剤残基としては、上記の本発明に使用される薬剤として挙げたアントラサイクリン系抗癌剤の残基が挙げられ、疎水性ポリアミノ酸としてはドキソルビシンの結合したアスパラギン酸を含むポリアスパラギン酸が特に好ましい。ブロック共重合体 1 分子中の疎水性ポリアミノ酸構造部分におけるアントラサイクリン系抗癌剤残基の重量割合は好ましくは 20%~70% であり、より好ましくは 25%~60% である。

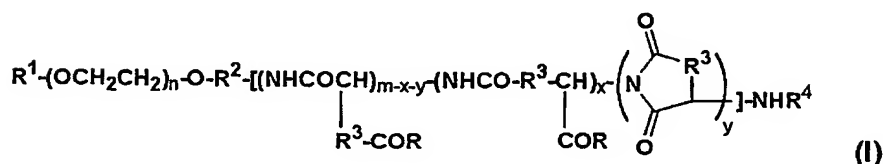
## 【0012】

又、本発明に使用される親水性高分子構造部分と疎水性ポリアミノ酸構造部分からなる AB 型ブロック共重合体は、例えば特開平 7-69900 号公報や特開平 5-955 号公報等に記載の方法に準じて製造されるものでもよい。即ち、片末端メトキシ片末端アミノプロポキシポリエチレングリコールと、 $\beta$ -ベンジル-L-アスパルテート-N-カルボン酸無水物又は  $\gamma$ -ベンジル-L-グルタメート-N-カルボン酸無水物を反応させ、得られるブロック共重合体の末端アミノ基をアシル化、側鎖ベンジルエステルをアルカリ加水分解し、生じる側鎖の遊

離カルボン酸とアントラサイクリン系抗癌剤を縮合剤と反応助剤を用いて縮合して得られる。該公報の方法で製造されるブロック共重合体は、例えば下記一般式(I)で表されるものと推定される。

【0013】

【化1】



【0014】

一般式(I)のポリアミノ酸構造部分における各構成部分の結合順は限定されずランダムでも規則的であってもよい。なお、式中Rは好ましくは水酸基又はアントラサイクリン系抗癌剤残基であり、R<sup>1</sup>は好ましくは水素原子又は低級アルキル基、より好ましくは低級アルキル基であり、R<sup>2</sup>は好ましくは低級アルキレン基であり、R<sup>3</sup>は好ましくはメチレン基又はエチレン基であり、R<sup>4</sup>は好ましくは水素原子又は低級アシル基、より好ましくは低級アシル基である。nは好ましくは5～1000の整数を示し、mは好ましくは2～300の整数を示し、x+yは好ましくは0～300の整数を示し、より好ましくは、nが80～300であり、mが20～50であり、x+yが0～50であり、但し、x+yはmより大きくなることはない。x及びyは上記条件を満たす整数であれば、0を含む如何なる値も取り得る。

【0015】

Rとしてのアントラサイクリン系抗癌剤残基におけるアントラサイクリン系抗癌剤としては、上記の本発明に使用される薬剤として挙げたアントラサイクリン系抗癌剤と同様であり、好ましいアントラサイクリン系抗癌剤も上記と同じくドキソルビシンである。

【0016】

R<sup>1</sup>における低級アルキル基としては、好ましくは炭素数1～4の直鎖又は分岐アルキル基が挙げられ、具体的には、メチル基、エチル基、n-プロピル基、i-プロピル基、n-ブチル基、t-ブチル基等が挙げられ、より好ましくはメ

チル基である。

#### 【0017】

R<sup>2</sup>における低級アルキレン基としては、好ましくは炭素数1～4の直鎖又は分岐アルキレン基が挙げられ、具体的には、メチレン基、エチレン基、トリメチレン基、2-メチルトリメチレン基、テトラメチレン基等が挙げられ、より好ましくはトリメチレン基である。

#### 【0018】

R<sup>3</sup>は、好ましくはメチレン基又はエチレン基であって、より好ましくはメチレン基である。

#### 【0019】

R<sup>4</sup>における低級アシル基としては、好ましくは炭素数1～4のアシル基が挙げられ、具体的には、ホルミル基、アセチル基、プロピオニル基、ブチリル基等が挙げられ、より好ましくはアセチル基である。

#### 【0020】

一般式(I)のアントラサイクリン系抗癌剤残基とポリアミノ酸側鎖との結合様式は特に限定されないが、好ましくはアントラサイクリン系抗癌剤のアミノ基又は水酸基と、ポリアミノ酸の側鎖カルボン酸によるアミド結合又はエステル結合が挙げられ、特に好ましくはアントラサイクリン系抗癌剤のアミノ糖部分の1級アミノ基とポリアミノ酸のカルボン酸側鎖によるアミド結合が挙げられる。

#### 【0021】

一般式(I)で表される親水性高分子構造部分と疎水性ポリアミノ酸構造部分からなるブロック共重合体において、特に好ましくは、R<sup>1</sup>がメチル基、R<sup>2</sup>がトリメチレン基、R<sup>3</sup>がメチレン基、R<sup>4</sup>がアセチル基、nが80～300、mが20～50、x+yがmより大きくない0～50であるブロック共重合体が挙げられる。

#### 【0022】

次に、本発明の製造法について説明する。親水性高分子構造部分と疎水性ポリアミノ酸構造部分からなるAB型ブロック共重合体を、水、又は水と混和する低沸点の有機溶媒と水との混合溶媒に溶解する。本発明における低沸点の有機溶媒

とは、沸点が $100^{\circ}\text{C}$  ( $101.3\text{ kPa}$ ) 以下の有機溶媒が挙げられ、好ましくは沸点が $50^{\circ}\text{C}$ ～ $100^{\circ}\text{C}$  ( $101.3\text{ kPa}$ ) の有機溶媒が挙げられ、水と混和する低沸点の有機溶媒の具体的としては、例えばメタノール、エタノール、イソプロパノール、アセトン等であり、ブロック共重合体を高濃度で溶解することができるエタノールが特に好ましい。混合溶媒における有機溶媒と水との比率はブロック共重合体が溶解すれば特に限定されないが、望ましくは $1:9$ から $9:1$ 、さらに望ましくは $1:3$ から $3:1$ である。また、このとき溶解を促進するために加温しても構わない。加温する際の温度はブロック共重合体が分解せず、安定性が保たれる範囲であればよく、望ましくは $30^{\circ}\text{C}$ ～ $100^{\circ}\text{C}$ 、さらに望ましくは $30^{\circ}\text{C}$ ～ $60^{\circ}\text{C}$ である。

#### 【0023】

本発明の製造法において、ブロック共重合体の水、又は水と混和する低沸点の有機溶媒と水との混合溶媒中の濃度は、溶解していれば特に限定されないが、通常 $2\%$ ～ $10\%$ が好ましい。

#### 【0024】

続いて、得られたブロック共重合体溶液に薬剤、例えば塩酸ドキシソルビシンを添加すると、溶解し均一な溶液が得られる。さらにこの溶液は、安定性や他の必要性に応じ $\text{pH}$ 調整をしても構わない。この際の $\text{pH}$ 範囲は、薬剤が分解しなければ特に限定されないが、塩酸ドキシソルビシンの場合、 $\text{pH } 4\sim 7$ が好ましい。

#### 【0025】

得られた複合体の溶液を濃縮することにより、溶液中に有機溶媒が含まれる場合には、この有機溶媒、たとえばエタノールが留去され、ブロック共重合体が形成する高分子ミセルの内核に薬剤が含有されたブロック共重合体-薬剤複合体が得られる。従って、従来の方法で行われていた透析、限外ろ過といった操作を行う必要がなくなった。こうして得られたブロック共重合体-薬剤複合体はレーザー光散乱により数十 $\text{nm}$ の粒子径が確認され、高分子ミセルを形成していることが明らかとなり、ゲルろ過カラムを用いた内包薬剤の定量から、製造に用いた薬剤の内 $80\%$ 以上の薬剤が内包されていることが確認された。

#### 【0026】

また、本発明では、更に得られたブロック共重合体－薬剤複合体を凍結乾燥することにより、凍結乾燥製剤とすることもできる。凍結乾燥の際、pHを一定にするために緩衝能をもった塩類、例えば、リン酸ナトリウムや酢酸ナトリウムなどを加えてもよい。

#### 【0027】

又、この凍結乾燥製剤は、例えば注射用水、生理食塩水、緩衝能を持たせた生理食塩水などに再溶解するとブロック共重合体－薬剤複合体溶液となる。

#### 【0028】

本製造法では、添加する薬剤が従来の製造法の様に製造操作過程で失われることはなく、薬剤が無駄にならないばかりか、ブロック共重合体に対する薬剤の内包率も高くすることが可能である。たとえば、特開平7-69900号公報の実施例に示されている製造法によれば、製造に用いたドキソルビシンの利用率および薬剤含有率は表1の通りであるが、後記の本製造法による実施例においては、表1に示すように薬剤の利用率および薬剤含有率ともに大幅に改善された。

#### 【0029】

【表1】

表1

	特開平7-69900号公報				本発明
	実施例1	実施例2	実施例3	実施例4	
ドキソルビシン利用率	87%	85%	72%	60%	95.70%
複合体の薬剤含有率	3.91%	9.04%	2.83%	7.56%	16.31%

#### 【0030】

ブロック共重合体が形成するミセルに薬剤を含有させ、遊離の薬剤と比較して低い毒性の範囲で高い抗腫瘍効果を示すことがブロック共重合体－薬剤複合体の特徴であるが、薬剤内包率を上げるということは相対的に必要なブロック共重合体量が少量でよいことになり、経済性の点でも実用上優れている。

#### 【0031】

以下に本発明を実施例で示すが、本発明はこれらに限定されるものではない。

## 【0032】

## 実施例1

上記一般式(I)において $R^1$ =メチル基、 $R^2$ =トリメチレン基、 $R^3$ =メチレン基、 $R^4$ =アセチル基、 $R$ =水酸基またはドキソルビシン残基(ドキソルビシンの結合している割合が平均45%)、ポリエチレングリコールの平均分子量5287、アスパラギン酸の平均ユニット数28.1であるブロック共重合体20.00gに注射用水100mLを加え、35℃に加温し懸濁させた。0.5N水酸化ナトリウム溶液を6.0mL加え攪拌した後、無水エタノール100mLを加えた。ブロック共重合体が溶解したことを確認した後、塩酸ドキソルビシン3.906gを添加し溶解させた。0.5N水酸化ナトリウム5.9mLを加えpHを6に調整し、注射用水188mLを加えた。1時間後、溶液をメンブランフィルター(ミリポア;GVタイプ0.22 $\mu$ m)にてろ過した後、減圧下溶媒を留去しブロック共重合体-薬剤複合体の溶液を得、更に凍結乾燥を行うことにより、ブロック共重合体-薬剤複合体の凍結乾燥物22.96gを得た。この複合体の薬剤含有量は16.31%であった。

## 【0033】

## 試験例1

実施例1で調製した凍結乾燥物をリン酸緩衝生理食塩水(pH7.4)に溶解し1mg/mLの溶液とした。この試料溶液を5℃にて1晩静置したのち、分析に使用した。水で膨潤させたセファデックスG-25(ファルマシア製:グレード、ファイン)約2mLをガラスカラムに充填した。このカラムに試料溶液を200 $\mu$ Lアプライした。水で展開しミセル部分を分取したのち、同量のジメチルホルムアミド(DMF)で希釈した後、水-DMF(1:1)溶液を用いて5mLにメスアップした(これを溶液1とした)。これとは別に、試料溶液200 $\mu$ Lを5mLメスフラスコにとり、水-DMF(1:1)溶液を用いて5mLにメスアップした(これを溶液2とした)。溶液1、2を、ミセル構造を壊す逆相HPLCにて分析し、得られたチャートのドキソルビシンのピーク面積の比(溶液1中の遊離ドキソルビシン量/溶液2中の遊離ドキソルビシン量)を計算した。実施例1で調製したブロック共重合体-薬剤複合体の薬剤内包率は94.9%

あった。

【0034】

逆相HPLCの分析条件

カラム Waters Symmetry C8  $\phi$  4.6 x 250 mm

カラム温度 40℃

溶離液

(A) 0.05%MS-3 + 0.01%TFA (MS-3はジーエルサイエンス製イオンペアー試薬、TFAはトリフルオロ酢酸)

(B) CH<sub>3</sub>CN

グラジエント

時間 (分)	0	20	25	35	50	51	60
B (%)	20	40	40	90	90	20	20

検出器 UV (485 nm)

流速 0.8 mL/分

注入量 20  $\mu$  L

【0035】

応用例 1

CDF1メスのマウスの背側部皮下にマウス大腸癌Colon26細胞を移植し、腫瘍の体積が100 mm<sup>3</sup>前後に達した時点から実施例1で得られたブロック共重合体-薬剤複合体又は塩酸ドキソルビシンを静脈内に投与した。ブロック共重合体-薬剤複合体は冷暗所に保存した凍結乾燥品を、リン酸で緩衝能を持たせた生理食塩水 (pH 7.4) で溶解して投与した。投与量は複合体中の薬剤量をもとに決定した。薬剤の抗腫瘍効果は、移植60日後の腫瘍消失 (治癒) マウス数と投与後14日目における腫瘍増殖阻害率から判定した。結果を表2に示す。

【0036】

【表2】

表2

## マウス結腸癌Colon26に対する効果

薬剤	投与量(mg/kg)	T/C(%) <sup>a)</sup>	Cure/n <sup>b)</sup>	Tox./n <sup>c)</sup>
対照群	0.0	100	0/10	0/10
実施例1の高分子 -薬剤複合体	30.0	0.3	9/10	0/10
	24.0	0.8	9/10	0/10
	19.2	1.4	8/10	0/10
塩酸ドキソルビシン	30.0	9.9	3/10	1/10
	24.0	6.4	4/10	0/10
	19.2	13.5	2/10	0/10

a): 投与後14日目の対照群に対する腫瘍体積比

b): 観察期間60日後に治癒していたマウス数/一群の匹数

c): 毒性死したマウス数/一群の匹数

## 【0037】

塩酸ドキソルビシンをそのまま投与した場合と比べ、本発明のブロック共重合体-薬剤複合体として投与した場合の方が、全ての投与群でより強い腫瘍の縮小効果を示した。また、観察期間（60日）終了時の治癒マウス数も塩酸ドキソルビシン投与群より多く、ブロック共重合体-薬剤複合体は、遊離の薬剤と比較して、低い毒性の範囲で高い抗腫瘍効果を示すことが明らかとなった。

## 【0038】

## 【発明の効果】

本発明のミセル型ブロック共重合体-薬剤複合体の製造法は透析、限外ろ過操作を含まないためその操作性も大幅に向上し、薬剤の利用率が高く、薬剤含量を高く且つ再現よくでき、従来の製造法に比べて短時間で調製可能である。また、特殊な設備が必要ではなく多量の水を使用しなくてもよいことから、実施が容易で工業化する際に非常に優れた方法である。本発明により、低い毒性の範囲で高い抗腫瘍効果を示すブロック共重合体-薬剤複合体が経済的に、かつ簡便に提供される。



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 透析や限外ろ過操作を行わず、又、ハロゲン化炭化水素を使用しないブロック共重合体－薬剤複合体の工業化可能な製造方法は知られていない。

【解決手段】 水、または水と混和する低沸点有機溶媒と水との混合溶媒に、親水性高分子構造部分と疎水性ポリアミノ酸構造部分からなるAB型ブロック共重合体と薬剤を溶解し、続いて溶液を濃縮する工程を含むことを特徴とするブロック共重合体－薬剤複合体の製造法を提供する。

【選択図】 なし

特願 2002-178619

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[396020800]

1. 変更年月日

1998年 2月24日

[変更理由]

名称変更

住 所

埼玉県川口市本町4丁目1番8号

氏 名

科学技術振興事業団

特願 2002-178619

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [000004086]

1. 変更年月日 1990年 8月 9日  
[変更理由] 新規登録  
住 所 東京都千代田区富士見1丁目11番2号  
氏 名 日本化薬株式会社
2. 変更年月日 2003年 4月25日  
[変更理由] 名称変更  
住所変更  
住 所 東京都千代田区富士見1丁目11番2号  
氏 名 日本化薬株式会社

特願 2002-178619

出 願 人 履 歷 情 報

識別番号

[591265312]

1. 変更年月日

1991年10月31日

[変更理由]

新規登録

住 所

東京都杉並区永福3-17-6

氏 名

桜井 靖久